

氏名（本籍）	守屋 俊夫（東京都）		
学位の種類	博士（神経科学）		
学位記番号	博甲第 6693 号		
学位授与年月	平成 25 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Novel convergence-oriented approach for evaluation and optimization of workflow in single particle 2D averaging of electron microscope images (電子顕微鏡像の単粒子二次元平均化におけるワークフローの評価と最適化のための収束思考アプローチ)		
主査	筑波大学教授	理学博士	久野 節二
副査	筑波大学教授	医学博士	設楽 宗孝
副査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学教授（連携大学院）	博士（理学）	高島 一郎

## 論文の内容の要旨

### （目的）

脳機能の分子レベルでの解明には、高分解能でイオンチャネルの構造多形を理解することが不可欠である。これまでに、その研究手法の 1 つとして単粒子解析法が考案され、解析ソフトウェアの開発により解析手順の自動化と時間短縮が図られてきた。しかし、実際の解析で行う最適化手順にはまだ人為的要素が含まれているため、得られた結果が定性的である上に、解析作業は膨大な時間を要してきた。脳機能の分子的理解を進めるためには、定量的で、高分解能、かつ手順の自動化による効率的な解析手法の確立が必要である。本研究では、イオンチャネルを高分解能で構造決定するための手順の全自動化に向けて、ワークフロー最適化における収束に注目した定量的な評価方法を構築し、その有効性を検討した。

### （対象と方法）

全ての単粒子解析ソフト対応型拡張ツールとして使用可能な総合的評価システム（IC-EOS）の開発について、二次元平均化後に、繰り返しサイクルから 5 つのベース計測量の値の抽出および抽出値の統計量計算を行うためのモジュール作成には C++ と DOS コマンドバッチファイルを用いた。また、曲線フィッティングと統計分析からなる収束評価モジュール作成にはマイクロソフトオフィス エクセル 2007 を利用した。画像処理アルゴリズムの実装には、OpenCV（無償画像処理ソフトウェアライブラリ）を使用した。IC-EOS の実用性は、ナトリウムチャネル NaChBac の負染色像を対象とした検証、GroEL シャペロンタンパク質の擬似投影像を用いたシミュレーション実験および陽イオン透過性 M23 チャネルの単粒子解析への実践応用により検討した。NaChBac は生化学的方法で調整

し、M23 は提供を受け、また GroEL シャペロンタンパク質については Protein Data Bank から入手した画像を解析に用いた。

#### (結果)

IC-EOS 開発では、数学モデルを適用した指標値の履歴曲線に対する収束判定のアルゴリズム化、収束傾向の安定度である残差平均（揺らぎ値）の相違による最適化の判断、複数指標値を用いたコンピュータ投票による判定方式の導入を試みた。収束傾向を測る 5 つのベース計測量（各計算サイクルの平均像の分解能とクラス内分散、平均像群内の類似度、および粒子像の平行移動量と回転角）を全て統合することで、より信頼性の高い評価方法の構築を目指した。

IC-EOS によるナトリウムチャンネル解析の二次元平均化に関する新規ワークフローと従来のものとを比較し、新規ワークフローにおける粒子像直立化アルゴリズムの導入が、収束傾向を著しく改善させることを確認した。適切なクラス数に関して、クラス数が減ると分解能が、逆に増えると相関係数が向上することが解った。指標値に関する上記同様の結果を、GroEL シャペロンタンパク質の解析においても得ることができた。さらに、NaChBac および M23 の単粒子解析に新規ワークフローを適用し、それぞれの粒子構造を解析して、有効性を実証した。

#### (考察)

本研究は、繰返し処理の収束判定の自動化、揺らぎ値によるワークフロー最適化の違いの統計的な優劣判断の実現、および収束判定と揺らぎ値を用いた投票方式の総合的な判断によりバランスのとれた最適な条件選択を自動化することで、高分解能のイオンチャンネル構造決定のための自動化を可能にした。複数エネルギー関数を活用した数値計算的手法が高分解能の構造決定の全自動化に有効であると考えられるため、今後は三次元構造の再構築の自動化への応用を図る必要がある。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究は、多様な脳機能の分子基盤として働くイオンチャンネルに関する構造生物学的解析方法の完全自動化を目指して、新規方法論の導入により総合的な解析システムを開発し、その有効性を実験的に証明した価値ある研究である。研究は、まだ最終目標へ向けて一步を踏み出した段階ではあるが、優れた解析手法を提供し、当該分野研究の推進に貢献するという点からも高く評価できる。

平成 25 年 5 月 21 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（神経科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。